

Two modes of corticospinal reinnervation occur close to spinal targets following unilateral lesion of the motor cortex in neonatal hamsters

|             |  |
|-------------|--|
| 著者          | 相坂 明   |
| 発行年         | 1999-03-26   |
| その他の言語のタイトル | 新生仔期に一側運動野を破壊したハムスターの皮質脊髄路は、脊髄内の標的近傍において二つの様式を示しながら再投射する。<br>シンセイジキ ニ イッソク ウンドウヤ ヲ ハカイシタ ハムスター ノ ヒシツ セキズイロ ハ セキズイナイ ノ ヒョウテキ キンボウ ニ オイテ フタツノ ヨウシキ ヲ シメシナガラ サイトウシャスル |
| URL         | <a href="http://hdl.handle.net/10422/2569">http://hdl.handle.net/10422/2569</a>  |

|         |  |
|---------|--|
| 氏名・(本籍) | 相坂 明(滋賀県)  |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位記番号   | 博士第300号  |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当   |
| 学位授与年月日 | 平成11年3月26日   |
| 学位論文題目  | Two modes of corticospinal reinnervation occur close to spinal targets following unilateral lesion of the motor cortex in neonatal hamsters<br>(新生仔期に一侧運動野を破壊したハムスターの皮質脊髄路は、脊髄内の標的近傍において二つの様式を示しながら再投射する。) |
| 審査委員    | 主査 教授 今本 喜久子<br>副査 教授 工藤 基<br>副査 教授 島田 司 巳   |

## 論文内容の要旨

### 【目的】

幼若な中枢神経系に傷害が起こった後、一旦失われた機能が回復する事がある。この現象は傷害を免れた領域から、上位支配を失った標的に対して、新たな神経経路が構築されて起こると言われている。しかし、その起源や経路については定説をみない。そこで新生仔期に一侧大脳皮質に傷害を与えたハムスターを用い、順行性標識物質のいんげん豆レクチン(PHA-L)で健常側の皮質脊髄路を標識した。これにより新たな神経経路が標的に再投射する事を証明し、その経路および投射様式について検討した。

### 【方法】

- 1) モデル動物の作成：生後6日のハムスターを低温麻酔し、右大脳の下肢運動野を焼灼した。十分に覚醒した後、ケージに戻して生育させた。
- 2) 標識物質の投与：生後21日に、2.5%PHA-L溶液(Vector社)を深麻酔下で左大脳下肢運動野に注入し、左皮質脊髄路を順行性標識した。覚醒後2-14日間生育させた。灌流固定の前日に再度麻酔し、0.1%コレラ毒素サブユニットB(CTb; List biological lab.社)溶液を両側腓腹筋に注入し、腰髄前角細胞を逆行性標識した。対照として、未処置のハムスターに同じ標識を行った。
- 3) 免疫組織化学：ハムスターを深麻酔下で灌流固定した。脳および脊髄を摘出し、さらに1-2日間浸漬固定した。15%蔗糖加リン酸緩衝液に2日間浸漬した後、20ないし40 $\mu$ mの凍結薄切切片を作製した。免疫染色は自家製の抗PHA-L抗体と切片を7日間反応させ、ABC法で行った。腰髄組織には免疫二重染色を行った。まずPHA-Lをニッケル加ジアミノベンチジン溶液で青色に呈色させた。次いで切片を抗CTb抗体(List biological lab.社)と5日間反応させ、ニッケルを含まない茶色の呈色反応でCTbを染色した。
- 4) 定量的画像解析：標的部位の腰髄で順行性標識の分布が、両群間でどの様に異なるか検討するため、定量的画像解析を行った。冠状断切片を中心管を目安にして灰白質を左右背側、左右腹側の4領域に分けた。各領域で標識の分布密度(Na)を画像解析装置(Nexus 6400)で測定した。切片毎の標識量、染色強度の違いを補正するため、Naの左右差(Na-left/Na-right)を計算し比較した。

### 【結果】

腰髄での標識および画像解析：大多数の順行性標識線維は、後索では両群ともに右側を通過しており、左後索で同側性に標識された線維は少数であった。灰白質では正常群の場合、標識線維は主に右側に投射し、VI, VII, IX層および、後索の周辺とII-V層の外側部に分布していた。正常群では左側への頒布は少なかったが、焼灼では右側に加えて、上位支配を失った左側にも標識線維が多数分布していた。左側での同側性標識の分布様式は右側とよく似ており、特にIX層では、CTbで標

識された脊髄前角細胞のごく近傍に順行性標識線維が分布していた。腰髄で定量的画像解析を行った結果、Na-left/Na-rightの値は焼灼群の方が正常群に比べて2-8倍高値を示し、有意差が認められた。

同側性標識線維の経路：標識部位から脳幹、錐体交叉にかけて、順行性標識の経路は両群間で明らかな違いはなかった。焼灼群では胸髄中部から、右後索を通過する標識線維が右側に加えて、正常群にはまれな左灰白質にも両側性に投射し始め、さらに下位に向かう様子が確かめられた。順行性標識の分布は腰髄で両側灰白質ともに最大であった。同側性標識線維の投射様式は、一旦左灰白質に投射した線維が後索近傍で再交叉する（Type 1）場合と、左後索を通過する皮質脊髄路線維が直接分枝し、左灰白質に投射する（Type 2）場合があった。また分枝による再交叉の場合、単一の標識線維から分枝線維が左灰白質へ、親軸索が右側に同時に投射している様子が認められた。

#### 【考 察】

本実験から新生仔ハムスターの一侧大脳傷害後に、上位支配を失った標的に向かって新たな神経支配が再構築される事が明らかになった。これは健常側の皮質脊髄路線維が腰髄近傍で、直接再交叉（Type 1）または分枝（Type 2）することによって、脱支配側へ分布したものであった。さらに腰髄における同側性神経投射は、正常側とよく似ており機能していると思われた。また大脳傷害後には単一の皮質脊髄路線維が同時に、両側の別個の標的を支配しうる可能性が示唆された。今までに傷害後の同側性神経支配は、脳幹部、又は錐体交叉部で形成されるという報告がある。今回、脊髄内の標的の近傍で同側性神経支配が起こった理由として、傷害を与えた時期には皮質脊髄路線維が既に錐体交叉部を通過していたため、標的の近傍で新たな神経経路が形成されたと考えられる。

#### 【結 論】

新生仔期の脳傷害の後、健常側の皮質脊髄路から上位支配を失った標的に向かう、新たな同側性神経支配が形成された。この神経支配は健常側の皮質脊髄路線維が、傷害時の発達段階に応じた位置で再交叉する事によって形成されたと考えられた。この同側性神経支配が、中枢神経傷害後の機能回復に重要な役割を果たしていると思われた。

## 論文審査の結果の要旨

発育の急進期に脳損傷を蒙った場合、予想される機能障害が回避される現象が起こり得る。この現象を形態学的に解明するために、生後早期に一侧大脳皮質運動野に損傷を加えたモデル動物を作成し、神経標識物質を用いて軸索の可塑的発達を検索した。その結果、脳損傷を蒙った動物では、健側皮質脊髄路ニューロンが上位支配を失った脊髄の標的に対し、同側性に投射していること、この同側性投射は、従来報告されている脳幹や錐体交叉レベルではなく、脊髄の標的に近い部位から脱支配側に再交叉すること、また再交叉には2つの様式（側枝発芽および軸索自体の経路変更）が存在することが明らかになった。

本研究は発育期脳障害後にみられる著しい機能的修復現象を、軸索の可塑性の面から証明したものであり、障害児医療・療育に大きく寄与するものと考えられる。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文に値するものと認められる。

なお本学位授与申請者は、平成11年2月16日に論文内容の発表を行い、さらにそれに関連した試問を受け合格と認められたものである。